



République d'Haïti

**PROJET D'AMÉLIORATION DE
LA CULTURE DE LA BANANE
(PACB)**



**CENTRE DE COOPERATION
INTERNATIONALE EN
RECHERCHE AGRONOMIQUE
POUR LE DEVELOPPEMENT**

RAPPORT DE MISSION DU 15 AU 23 NOVEMBRE 2016

**PROJET DE SECURITE ALIMENTAIRE
SECAL-OUEST**

**Thierry LESCOT
Christian CHABRIER**

Table des matières

1.	Introduction – Mise en contexte	3
2.	Nématologie.....	4
2.1	Généralités	4
2.2	Opérationnalité des laboratoires.....	7
2.3	Techniques d'évaluation des nématodes phytoparasites	8
2.4	Analyse des sources de contamination potentielle	11
2.5	Statut d'hôtes de plantes associées.....	14
2.6	Proposition d'expérimentation pour réguler les populations de nématodes	16
3.	Culture in vitro (VITROPIC).....	18
4.	Agronomie (irrigation et fertilisation adaptée)	19
5.	ANNEXES	21
5.1	Annexe 1 : Demande de financement pour les équipements d'un laboratoire de nématologie au Laboratoire Vétérinaire et de Contrôle de Qualité des Aliments de Tamarinier (LVCQAT).	21
5.2	Annexe 2 : Technique de prélèvement de racines de bananier	29
5.3	Annexe 3 : Extraction de nématodes d'un échantillon de racines par centrifugation-flottaison...	31
5.4	Annexe 4 : matériel pour laboratoire de culture in vitro FAMV	37

1. Introduction – Mise en contexte

Le PACB-2 est la deuxième phase du premier projet exécuté entre 2008 et 2012 dans la Plaine de l'Achaïe et sur l'axe Montrouis / Saint-Marc avec pour objectifs d'améliorer les conditions de vie des agriculteurs à travers le relèvement durable de la production de plantain et le renforcement des capacités techniques et organisationnelles de ces derniers. Plus spécifiquement, le PACB-2 devra capitaliser sur les résultats de la première phase pour renforcer les acquis et reprendre le programme de recherche là où il s'était arrêté.

Le projet est exécuté par la FAMV pour compte du Ministère de l'Agriculture des Ressources Naturelles et du Développement Rural (MARNDR) avec un financement de l'AFD d'un montant de 500 000€ dont 100 000 pour financer l'appui technique et scientifique du CIRAD.

Ainsi, le CIRAD intervient au niveau des grands axes de recherche qui ont été établis entre la FAMV et le MARNDR, à savoir :

- L'agronomie des musacées comestibles
- Les techniques de production biologique de plantain
- Les problèmes phytosanitaires majeurs
- La production de matériel de production indemne de maladie

Concernant le dernier axe, une première mission exploratoire avait eu lieu du 25 au 28 mai 2016 avec le Directeur de Vitropic (filiale du CIRAD, produisant et commercialisant des vitroplants de bananiers), le Dr. Yvan Mathieu, afin d'évaluer avec la FAMV la possibilité de mise en place d'un petit laboratoire de culture in vitro de bananiers (contraintes et besoins matériels et techniques) ; cependant le Dr. Yvan Mathieu est décédé accidentellement en août 2016, il était donc nécessaire de refaire le point sur cet appui avec la FAMV en fonction de cette nouvelle contrainte.

Cette mission d'appui scientifique était composée de : Christian Chabrier, nématologiste du CIRAD, et Thierry Lescot, agronome et représentant de Vitropic, et avait pour but :

- Nématologie :
 - Evaluation de l'opérationnalité des laboratoires de nématologie potentiels
 - Les techniques d'évaluation (et de comptage) adaptées au contexte
 - Analyse des différentes sources de contamination par les nématodes (dont statut eau irrigation)
 - Propositions pour évaluer le statut d'hôte de plantes associées au plantain
 - Propositions d'expérimentation(s) visant la régulation/diminution des nématodes
- Culture in vitro (VITROPIC) :
 - Evaluation du projet de mise en place du laboratoire dans les locaux de la FAMV
 - Evaluation des besoins en matériels

- Programmation et organisation de la formation de base de l'équipe CIV de la FAMV
- Agronomie :
 - Fertilisation adaptée

2. Nématologie

Pour améliorer la lutte contre les nématodes des bananiers, le Cirad peut contribuer au montage et à la mise en place d'un laboratoire de nématologie, évaluer et proposer des méthodes de lutte pour améliorer les rendements. Les premiers travaux peuvent être d'identifier les risques de contamination des parcelles et de proposer des protocoles pour évaluer le statut d'hôte des différentes cultures de rotation culturale.

2.1 Généralités

Parmi les principaux parasites des bananiers, les nématodes occupent souvent l'une des premières places, seuls ou en synergie avec d'autres bioagresseurs, champignons du sol et charançons. Dans les racines des bananiers plantains (= Musquées), les *Pratylenchus* (essentiellement *P. goodeyi* en Afrique et *P. coffeae* aux Amériques) sont généralement les nématodes dominants. Les dégâts, pratiquement similaires à ceux de *Radopholus similis* consistent en :

- L'apparition de taches brunes dans les racines
- La chute des plants suite à la fragilisation des racines



Photo 1. *Pratylenchus coffeae* extrait d'une racine de plantain (en Martinique). En haut : jeune juvénile, au milieu : femelle gravide, en bas : un mâle. (Microscopie optique, grossissement x100)



Photo 2. Dégât de *Pratylenchus* sur racine de bananier : nécrose de racines atteignant le cylindre central.

Dans de nombreuses régions de production, les nématodes Pratylenchidae (genres *Radopholus* et *Pratylenchus*) sont, avec le charançon *Cosmopolites sordidus*, le facteur limitant de la durabilité des bananeraies et particulièrement des musquées. Par exemple, au Cameroun et à Mayotte, le bananier plantain est quasiment une culture annuelle à cause de ces deux parasites telluriques ; de nombreux bananiers chutent en cours de premiers cycle, moins d'un tiers des bananiers arrive à produire deux régimes. La durabilité, la productivité et la rentabilité des plantations sont ainsi fortement compromises.

Lors de mission précédentes, des échantillons de racines avaient été analysés en France. Les populations de *Pratylenchus coffeae* pouvaient atteindre jusqu'à 1 000 *Pratylenchus* par gramme de racine¹. Avec des populations aussi considérables, les rendements ne peuvent qu'être anormalement bas.

Malgré leur longueur (625-735 µm pour les femelles adultes²), du fait de leur diamètre (20 à 28 µm), ces nématodes sont quasiment invisibles à l'œil nu. Un laboratoire est ainsi indispensable pour les extraire et mesurer les populations dans le sol et surtout les racines des plantes. Ce laboratoire permettra :

- de mesurer l'importance des populations ; ces mesures seront à rapprocher des niveaux de dégâts sur racines et des rendements. Ils permettront ainsi de sensibiliser les agriculteurs à l'importance de ces parasites des racines.
- de permettre dans un deuxième temps aux agriculteurs de suivre leurs populations et d'évaluer l'efficacité des mesures prises pour contrôler les nématodes.

Cependant, l'expérience montre que la virulence des populations de *Pratylenchus* varie d'une région du monde à l'autre. Les résultats obtenus en Afrique, en Asie ou même dans d'autres pays de la Caraïbe (Jamaïque, Martinique, Porto-Rico, Costa Rica...) ne sont qu'en partie transposables à Haïti, soit parce que les conditions de sol et de climat sont différentes, soit parce que la virulence des populations locales de *Pratylenchus* est différente de celle du pays où les résultats ont été obtenus.

¹ Comptage en laboratoire CIRAD de Montpellier (France) entre 1999 et 2001 sur échantillons provenant de l'Arcahaie

² D'après P. Castillo et N. Vovlas, 2007. *Pratylenchus* (Nematoda: Pratylenchidae): diagnosis, biology, pathogenicity and management. Brill., Leiden, P. 83-86

Il est donc nécessaire d'acquérir en Haïti des informations sur :

- la virulence des souches locales et l'acquisition de référentiels locaux
- le spectre d'hôtes des souches locales pour connaître les plantes hôtes susceptibles de multiplier les *Pratylenchus* ou du moins de permettre leur survie.
- Ces informations sur les hôtes alternatifs sont nécessaires pour concevoir et appliquer des **méthodes de lutte agronomique** basées sur les rotations culturales ou l'utilisation de plantes de service. La mise au point de ces méthodes est souhaitable : rappelons qu'à la Martinique, la mise en œuvre de systèmes basés sur l'utilisation des vitroplants indemnes de nématodes dans des champs assainis par rotation avec des cultures non-hôtes (comme l'ananas ou la canne à sucre) a permis de produire avec des rendements élevés (jusqu'à 50 tonnes/ha /an) sans utiliser de nématicides. Ces méthodes mises au point sur banane dessert peuvent être désormais transposées sur plantains (= musquées) depuis que la production de vitro-plants de plantain indemnes de virus intégrés au génome est possible. Encore faut-il connaître les cultures de rotations potentielles, qui doivent être non hôte et doivent encore moins risquer d'introduire (via le matériel végétal) de *Pratylenchidae* (*Pratylenchus* ou *Radopholus*) dans les champs, les plantes de services (même problématique) et les risques de recontamination (surtout si les plantes de rotations sont moins rémunératrices que le bananier car les agriculteurs auront alors tendance à raccourcir au maximum la période dédiée aux plantes de rotations).
- les **voies de contamination**. Les *Pratylenchidae* se disséminent³ :
 - d'un pays, voire d'un continent à l'autre : par l'homme, notamment lors des transferts de matériel végétal (rejets contaminés)
 - aux échelles du bassin versant et du champ⁴ : par les eaux de ruissellement en surface, mais aussi par les eaux d'irrigation⁵. Pour prévenir la dissémination des *Pratylenchus*, il est nécessaire d'adapter aux conditions locales et de valider des méthodes prévenant ce risque. Cela ne peut se faire sans laboratoire de comptage, de préférence sur place
 - à l'échelle du mètre, par les eaux à la surface du sol et de façon active dans le sol et les racines des plantes-hôtes (sachant qu'une population de *Pratylenchidae* ne peut se déplacer activement que sur des distances de quelques mètres par an).

Un programme de travail devrait alors être envisagé pour étudier des méthodes prévenant la diffusion par les eaux. Ce travail, que la FAMV pourrait prendre en charge et confier au moins en partie à ses étudiants, nécessite cependant au préalable un laboratoire performant capable de déterminer et dénombrer les principales espèces de nématodes.

³ Voir : <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00697213/>

⁴ Voir *Applied Soil Ecology*, 41, 148-156 et *Crop Protection*, 27, 1237-1243

⁵ Voir *Journal of Nematology*, 2, 362-367 et *Journal of Nematology*, 2, 368-374

2.2 Opérationnalité des laboratoires

Lors de cette mission, l'une de nos principales tâches a été d'**identifier les structures et les locaux capables d'abriter ce laboratoire**, de faire l'inventaire des possibilités, d'évaluer les investissements nécessaires.

A la FAMV, nous avons visité un ancien bâtiment qui est retenu pour y monter un laboratoire de CIV. Cependant, il est nécessaire de bien séparer les deux laboratoires, les vitro-plants ne devant pas être contaminés par des nématodes, à commencer par ceux qu'étudiera le laboratoire de nématologie. Mais surtout, ce bâtiment nécessite des travaux très lourds pour être réhabilité et ne semble pas pouvoir disposer rapidement de techniciens de laboratoire dédiés et permanents. Certains petits matériels (tamis par exemple) sont présents et pourraient être mis en commun avec d'autres structures pour des projets communs.

Monsieur Joël Ducasse dispose également d'un bâtiment et de matériels et fournitures de laboratoires. Cependant, son bâtiment nécessite aussi des travaux de second œuvre importants. D'autant plus importants que les activités à mener en même temps ne sont pas toujours compatibles entre elles et nécessite ainsi de travailler dans des compartiments isolés. Ainsi, les activités qu'il compte mener sur des agents de biocontrôle et/ou sur l'utilisation de champignons pour traiter et valoriser des déchets ne pourront être toutes menées dans les mêmes salles que celles destinées à l'extraction et au comptage des nématodes. Se pose également le problème du financement du laboratoire. Les besoins à couvrir sont importants, mais, au moins dans un premier temps, risquent d'être d'autant moins solvables que les agriculteurs ont peu conscience de l'importance des parasites souterrains. Un autofinancement ne peut donc pas être envisagé à court terme.

Le laboratoire du Centre Rural de Développement Durable (CRDD) de Montrouis avait été précédemment pressenti pour réaliser des analyses nématologiques. La liste des matériels et consommables nécessaires aux extractions par centrifugation-flottaison (méthode de routine utilisée au Cameroun, en Côte d'Ivoire, Guadeloupe et Martinique pour permettre aux agriculteurs de suivre leur population de nématodes dans les racines de bananiers) avait été fournie en septembre 2012 (et, de nouveau en novembre 2013). Les locaux sont quasiment neufs, fonctionnels, mais aucun matériel destiné à l'extraction des nématodes ne semble avoir été reçu. Aucune formation spécifique n'a été délivrée, malgré les propositions successives du Cirad et de l'IRD. Or, l'extraction et la reconnaissance des nématodes nécessitent un minimum de savoir-faire et de formation ad-hoc pour être fiable.

Enfin, nous avons visité le Laboratoire National Vétérinaire et de Contrôle de Qualité des Aliments de Tamarinier du Ministère de l'Agriculture, des Ressources Naturelles et du Développement Rural (LNCQUAT/MARNDR) géré par Monsieur Michel-Alain Louis. Les locaux sont vastes, en bon état, et aménageables sans difficultés majeure. Nous avons pu visiter un bâtiment actuellement inutilisé qui pourrait abriter le laboratoire de nématologie moyennant quelques investissements pour un montant

raisonnable. Nous avons rédigé ensemble un projet de financement CSME/Union Européenne pour acquérir les outils et consommables nécessaires.

A ce jour, il nous semble que le LNCQUAT de Tamarinier est la structure qui offre la meilleure combinaison espace disponibles, moyens mobilisables et soutien de la Direction de la structure.

2.3 Techniques d'évaluation des nématodes phytoparasites

Les nématodes parasites des bananiers vivant dans les sols et surtout dans les racines, il est nécessaire de les extraire pour les observer ou les dénombrer. Il existe différentes méthodes d'extractions, les unes utilisant la mobilité des nématodes (méthodes actives), les autres leurs caractéristiques physiques (essentiellement la taille et la densité des organismes à isoler). Classiquement, les protocoles d'extraction combinent une ou plusieurs méthodes. Le choix de ces méthodes dépend de l'objectif de l'analyse (que voulons-nous mesurer et pourquoi) et des moyens disponibles.

Cependant, avant d'isoler les nématodes, il faut d'abord prélever les échantillons. Selon les animaux recherchés, on prélèvera

- des échantillons de racines ; selon l'objectif de l'étude, on prélèvera soit l'ensemble des racines présent dans un volume de 30 x 30 x 30 cm³ au pied du bananier (les *Pratylenchus* et les *Radopholus* ayant tendance à remonter dans les racines vers les bulbes, ils se concentrent dans les racines primaires à proximité de la souche), soit un échantillon de 5 racines à proximité de la souche (donc pour avoir un même volume par bananier). Le choix de la méthode de prélèvement dépend de ce que l'on cherche à évaluer. Ainsi, pour les prélèvements destinés à aider les agriculteurs à gérer leur population de nématodes, on prélève en Côte d'Ivoire selon la première méthode car dans ce pays, le dégât principal des Pratylenchidae est la diminution de la capacité des racines à nourrir la plante ; à la Martinique, où le dégât principal⁶ est la chute des plants, on utilise plutôt la seconde.
- lorsque les populations de nématodes sont faibles ou moyennes, leur distribution ne suit généralement pas une loi normale, les répartitions sont « sur-agrégées ». Les modèles de répartition sont alors log-linéaires, voir binomiaux. En pratique, cela oblige les préleveurs à multiplier les points de prélèvement et à être très rigoureux quant au choix des points de prélèvements pour que l'échantillon collecté soit représentatif.

Quoi qu'il en soit, les préleveurs doivent être formés pour adapter leurs modes opératoires et prélever des échantillons adaptés.

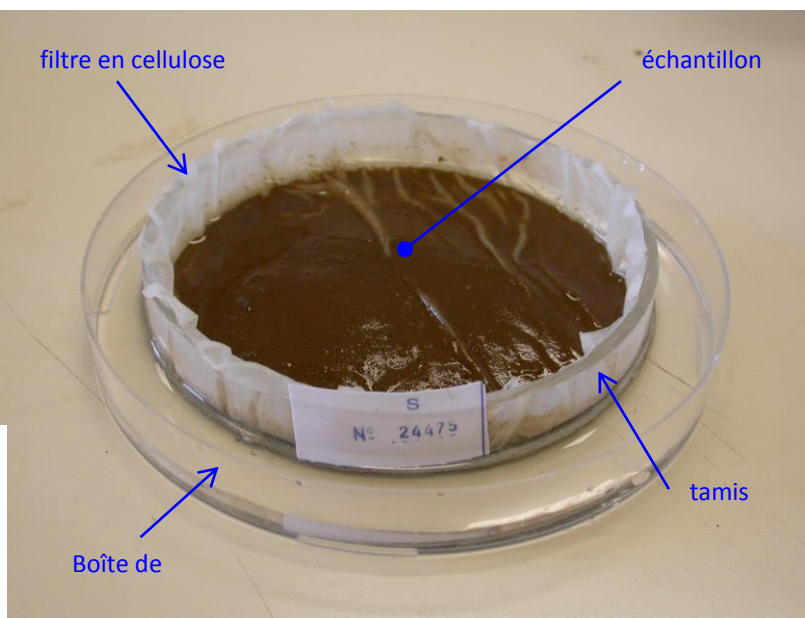
⁶ Ces différences sont liées aux différences de sols et de climat. Au Cameroun ou à la Martinique, les principales zones de production disposent de sols volcaniques très riches ; mais les bananiers doivent pouvoir y supporter des coups de vent, parfois violents. En Côte d'Ivoire, les sols sédimentaires sont beaucoup plus pauvres mais le risque « vent » est bien plus faible.

Pour l'extraction, les principales méthodes sont les suivantes⁷ :

- méthode de Baermann : elle consiste à déposer un échantillon sur un dispositif constitué d'un tamis recouvert d'un filtre papier surmontant un récipient (entonnoir fermé, boîte de Pétri ou soucoupes) rempli d'eau. Les nématodes, en cherchant de la nourriture ou des conditions de vie plus favorables, traversent le filtre et tombent au fond du récipient (ils sont plus denses que l'eau et ne peuvent nager). Cette méthode est simple à mettre en œuvre et le matériel spécifique est peu coûteux et facile à fabriquer.



Photo 4-5 : Exemple de dispositif Baermann : en haut : tamis vide (à gauche) et recouvert de son filtre (à droite) ; à gauche : dispositif en cours d'extraction.



Ces dispositifs ne permettent cependant que soit de traiter des échantillons de petits volume, soit de terminer l'extraction des nématodes en complément d'une autre technique qui aurait éliminé une grosse partie des particules de végétaux ou de sol, comme par exemple l'élutriation. De plus, si elle convient bien aux *Pratylenchus*, avec d'autres nématodes moins mobiles ou plus gros, les pertes peuvent être importantes (40 à 60% pour des *Radopholus* adultes). Enfin, les résultats peuvent être biaisés, les nématodes à mobilité réduite n'étant pas extraits ; ainsi, les *Pratylenchus* d'un échantillon qui ont subi un coup de chaleur lors du transport de l'échantillon, risquent de ne pas être détectés.

- Broyage : avec un blender de cuisine, on peut extraire les nématodes des tissus végétaux dans lesquels ils se trouvent. Cette technique ne suffit pas pour observer les nématodes, mais peut entrer utilement dans la chaîne d'opération à mettre en œuvre.

⁷ Pour une description plus complète, voir :

- 1- Hooper, D.J., Hallmann, J., Subbotin, S.A., 2005. Methods for Extraction, Processing and Detection of Plant and Soil Nematodes. In: Luc, M., Sikora, R.A., Bridge, J., *Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture*, 2nd edition. CAB International Edit., Wallingford Oxon, U.K., ISBN 0-85199-727-9, 53-86
- 2- <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00697213/> : Partie 2.2, pages 36-54

- **Tamisage** : les colonnes de tamis permettent d'éliminer les particules de taille supérieure et inférieure aux nématodes recherchés. Pour les Pratylenchidae, on travaille généralement avec des colonnes de quatre tamis, celui du haut à 250 μm (de l'ordre de la moitié de la longueur des animaux recherchés), celui du bas de 20 à 30 μm (de l'ordre du diamètre des animaux recherchés). On récupère alors les refus des tamis (sauf celui du haut). Cette méthode, facile à mettre en œuvre, ne suffit cependant pas seule, mais, comme le broyage, entre dans la chaîne d'opération pour l'extraction des nématodes.
- **Elutriation** : il s'agit d'une méthode classiquement utilisée pour les études en écologie. Elle demande cependant un matériel spécifique (élutriateur de Seinhorst ou d'Oostenbrink). Cette méthode consiste à placer l'échantillon au sommet d'une colonne d'eau ; un flux d'eau entrant par le bas de la colonne permet la mise en suspension des particules dont la densité est supérieure à 1 mais inférieure à 1,18 (dont les nématodes). Cependant, elle nécessite l'achat d'un appareil spécifique assez coûteux⁸ et un technicien suffisamment formé. Son utilisation n'est pas à envisager dans un premier temps. Elle devra l'être si le développement d'un programme de recherche en écologie des sols émerge dans le futur.
- **Centrifugation-flottaison** : cette méthode consiste aussi à séparer les nématodes des particules qui les entourent en fonction de leur densité. L'échantillon est mis en suspension puis centrifugé dans deux solutions successives : de l'eau (éventuellement additionnée de kaolin) pour éliminer les particules de densité inférieure à 1, puis une solution de H_2SO_4 ou de sucre à $d = 1,18$ pour éliminer les particules plus denses. En pratique, cette technique donne d'excellents résultats pour extraire les Pratylenchidae des racines de bananiers (après broyage des racines et tamisage de l'échantillon) ou du sol (après tamisage).
- **Aspersion dans une chambre à brouillard** : cette méthode est utilisée que pour extraire les nématodes des racines que l'on coupe en petits tronçons et place dans un tamis au-dessus d'un entonnoir. Les nématodes éventuellement présents dans l'échantillon sortent au bout de quelques jours et sont entraînés par un flux d'eau au fond de l'entonnoir et récupéré dans un f.



Photo 6 : Batterie d'élutriateurs de Seinhorst

⁸ Voir par exemple : <http://www.meku-pollaehne.de/Home/NEMATODE-instruments/Oostenbrink-elutriator/oostenbrink-elutriator.html>

Il suffit alors de sortir ce récipient au bout de 7 à 15 jours et, après 2 heures de décantation, de pomper l'eau en excès, pour obtenir une suspension de nématodes à analyser.

Avec cette méthode, on ne récolte que les individus mobiles dans les 7 à 15 jours suivant le prélèvement. On ne mesure pas ainsi la population à un instant T mais plutôt le potentiel à court terme de cette population.

Simple à mettre en œuvre, elle nécessite cependant un local dédié et des quantités d'eau importantes. Le délai de réponse est plus long, puisque deux semaines sont nécessaires pour obtenir le résultat contre 1 à 2 jours pour les extractions par centrifugation-flottaison.

- **Macération** : cette méthode permet d'extraire les nématodes des racines en plongeant des tronçons de racines dans de l'eau oxygénée, dans une boîte de Pétri. Celle-ci augmente l'activité des nématodes, et les incite à sortir plus rapidement des racines. Etant plus denses que la solution d'eau oxygénée, ils sont ensuite entraînés au fond des boîtes où ils pourront être observés.

Cette méthode permet de traiter un grand nombre d'échantillons (une personne peut traiter 40 échantillons par jour). Elle fournit une suspension raisonnablement propre (photo 10). Elle peut être mise en œuvre rapidement (réponse du test en 6 h) avec très peu de matériel. Cependant, elle ne permet que la mise en évidence de la présence d'un nématode donné dans un échantillon. Pour quantifier les populations de nématodes extraits, il faut faire appel à d'autres méthodes.

Pour répondre aux besoins immédiats, particulièrement ceux des agriculteurs, l'extraction par centrifugation flottaison est la méthode la plus adaptée et devrait être mise en œuvre. A titre de modèle, nous fournissons en annexe le mode opératoire type que nous mettons en œuvre en Martinique. D'autres méthodes pourraient cependant être mises en œuvre pour répondre à des besoins ultérieurs des équipes de recherche ou de développement.

Pour les comptages proprement dit, une loupe binoculaire avec éclairage diascopique et grossissement x50 suffit pour du personnel bien aguerri. Cependant, pour les formations, un microscope optique x100 est indispensable. De plus, pour observer les détails morphologiques et déterminer les animaux inhabituels, il est nécessaire de disposer d'au moins un microscope optique avec grossissement x200. Les nématodes étant plus denses que l'eau, les observer par le dessous peut être très utile ; si possible, il serait souhaitable que le microscope x200 soit un microscope à fond inversé.

2.4 Analyse des sources de contamination potentielle

En théorie, plusieurs voies de dissémination des nématodes sont possibles. Mais toutes ne fonctionnent pas de la même façon, et, suivant l'échelle à laquelle on se place, l'une ou l'autre voie est privilégiée.

2.4.1 Anthropique, via le matériel de plantation

Les principaux cultivars de bananiers étant pratiquement stériles, cette culture est multipliée de façon végétative, par rejets et fragments de bulbe. L'un et l'autre peuvent être contaminés par des nématodes ; en transportant le matériel végétal d'une bananeraie à l'autre, l'homme dissémine à son insu les nématodes parasites. A l'échelle internationale, c'est même là le principal mode de dissémination. L'apparition de *Radopholus similis* dans différents pays est ainsi liée aux introductions successives des principaux cultivars de bananiers dessert⁹, de "Gros Michel" aux "Cavendish" à partir de 1835. De là l'importance de disposer de barrière sanitaire pour ne pas importer de parasites exogènes.

Ces échanges sont aussi importants pour éviter à l'échelle régionale. La virulence de *Pratylenchus coffeae* est variable d'un site à l'autre, et il est nécessaire de prévenir la diffusion de matériel contaminé pour éviter d'introduire de nouvelles souches qui pourraient soit s'attaquer à des bananiers tolérants aux souches locales soit commettre plus de dégâts sur les variétés sensibles.

C'est pourquoi il faut éviter de diffuser des souches ou des rejets bâionnettes ; nous préconisons de ne diffuser que du matériel certifiable, PIF (qui peut encore être contaminé) et surtout vitro-plants. Les plants doivent cependant être certifié et contrôlé à la sortie du grossissement car d'autres voies de contamination sont possibles, y compris dans des serres.

2.4.2 Anthropique, via le sol transporté par les outils

Aux USA, des études ont montré que *Pratylenchus penetrans* pouvait être disséminé à l'intérieur d'une même parcelle par les outils de labours, mais pas par les outils de récolte. De même, un cas de transport accidentel par bulldozer a été signalé. Ce mode de transport semble cependant marginal, surtout en agriculture manuelle.

2.4.3 Par le vent

Ce mode dissémination nécessite des conditions particulières (vents violents sur sols découverts) et surtout la capacité pour le nématode d'entrer en vie ralentie (quiescence ou diapause) et de se dessécher. Certains *Pratylenchus* sont ainsi susceptibles d'être disséminés par le vent ; ce mode dissémination est cependant probablement très marginal pour *Pratylenchus coffeae* et pratiquement impossible pour *Radopholus similis*.

2.4.4 Par les eaux

Les nématodes sont susceptibles d'être disséminés par les eaux de ruissellement en surface. C'est même là la principale voie de dissémination entre deux parcelles et l'une des deux voies principales de dissémination à l'intérieur des parcelles (avec la dissémination active). Pour la prévenir, l'isolement des parcelles les unes par rapport aux autres par des fossés et un moyen efficace de prévention. Ce moyen n'est cependant pas toujours compatible avec la configuration des lieux et les systèmes de culture utilisés.

⁹ Marin, D.H., Sutton, T.B., Barker, K.R. 1998. Dissemination of bananas in Latin America and the Caribbean and its relationship to the occurrence of *Radopholus similis*. *Plant disease*, **82**, 964-974.

Nous avons aussi montré dans le passé qu'ils pouvaient être disséminés par des eaux d'irrigation (par aspersion) provenant de rivière drainant des bananeraies en amont. A fortiori, le risque serait encore plus important avec l'irrigation gravitaire, puisqu'aucun dispositif de filtration n'est mis en œuvre pour retenir d'éventuels nématodes transportés par les eaux.

Il paraît alors souhaitable d'évaluer :

- Les flux de nématodes déplacés par les eaux d'irrigation. Pour cela, il faudrait collecter les eaux dans les canaux en aval de parcelles contaminées. Cela suppose
 - o de suivre cette contamination grâce à des comptages de nématodes sur les racines des bananiers amont, à raison d'un comptage / cycle lors de la floraison sur 100 à 200 bananiers, et de bien cartographier les prélèvements
 - o de collecter à chaque tour d'irrigation 20 litres d'eau par points de prélèvements (sortie de parcelle contamination amont, entrée de parcelle aval). Il faut collecter des volumes suffisant pour évaluer les populations ; lors de nos essais en Martinique, nous avons observé environ 80 *Pratylenchus coffeae*, 300 *Radopholus similis* et 500 *Helicotylenchus* spp. dans deux rivières drainant des champs de banane, essentiellement Cavendish dessert. Nous nous attendons donc à ne collecter que quelques dizaines d'individus pour 20 litres d'eau. La collecte devra se faire avec une petite pompe, la crépine étant posée au fond du canal (les nématodes étant plus denses que l'eau).
 - o Et enfin, en aval des collectes, disposer des vitro-plants de bananier et suivre leur recontamination à l'aide prélèvements trimestriels.

Une fois mesurée l'importance de ces transferts, des mesures de prévention pourront être évaluées. Celles-ci pourraient par exemple reposer sur la mise en place de petits bassins de décantation (les nématodes tombent au fond de l'eau qui stagne) avec reprise de l'eau en surface. De telles structures sont à concevoir avec les agriculteurs utilisateurs pour que ces derniers acceptent les contraintes posées. Ainsi, si on développe les bassins de décantation, une partie de l'eau (le fond) sera perdu ; le dispositif nécessitera un entretien que les agriculteurs devront assumer.

2.4.5 De façon active

Les *Pratylenchus* peuvent se déplacer de façon active

- dans les interstices du sol, en rampant dans un film d'eau.
- dans les racines, essentiellement en remontant le long du cylindre central.

Cependant, ces déplacements se font sur des distances courtes (quelques mètres au maximum par an). Un nématode d'une part n'avance que lentement (4 à 5 mm/h pour *Pratylenchus penetrans*) et d'autre part ces organes des sens (chimiorécepteurs) ne lui permettent de détecter des racines hôtes que sur des distances courtes, de quelques dizaines de cm.

Ce mode de dissémination est ainsi limité à l'échelle intra-parcellaire.

Ce qui paraît le plus utile pour prévenir les contaminations est, pour l'instant :

- **la mise en place de mesures de quarantaine pour prévenir les réinfestations :**

- la vérification des vitro-plants (et des PIF) en serre de grossissement, juste avant livraison aux agriculteurs
- l'étude des transports par les eaux d'irrigation et la mise au point, avec les agriculteurs, de méthode pour la prévenir

2.5 Statut d'hôtes de plantes associées

Pour évaluer le statut hôte/non hôte d'une plante donnée, le plus sûr est de la cultiver en pot en conditions contrôlée, de l'inoculer puis de suivre les populations après un temps approprié. Ces tests doivent être réalisés avec des populations locales de *Pratylenchus*, puisque le pouvoir pathogène et surtout, les spectres d'hôtes, peuvent varier d'une population à l'autre.

Pour ces études, il faudra une chambre de culture ou une serre munie de table sur lesquelles seront menées les expériences. La température devra rester favorable au développement de *P. coffeae*, comprise entre 20 et 26°C ; l'humidité de la terre des pots destinés aux expérimentations rester entre pF 1 et 2 (pour que les pores de 30 à 300 µm soient toujours remplis à la fois d'air et d'eau). Les études seront menées sur des tables (donc isolées du sol). Ces tables seront munies d'un dispositif permettant d'empêcher les nématodes de passer d'un pot à l'autre via les eaux de drainage. On pourra par exemple :

- 1- disposer de tables munis d'alvéoles dans lesquels on glisse les pots ; les eaux de drainage tombant alors dans un bac situé assez loin sous le pot pour que les nématodes ne puissent remonter.
- 2- disposer des bacs sous les pots pour les isoler les uns des autres.



Photo 7 : exemple de dispositif pour étude de plantes en condition contrôlée : table alvéolée avec pots (ceux-ci sont constitués de tubes PVC fermés en bas par une grille moustiquaire) Noter à l'arrière-plan le dispositif pour isoler la base des pots dues eaux de drainage



Photo 8 : exemple de dispositif pour étude de plantes en condition contrôlée : pots d'un litre sur bac

Les plantes à étudier seront plantées dans des pots remplis d'un sol sableux (pour être sûr que les nématodes puissent circuler librement dans ce milieu, et donc disposer d'interstices interconnectés de 30 à 300 μm) stérilisé à la chaleur (1 h avec un stérilisateur à vapeur type Garden-Vap, à la rigueur avec un autoclave à 105 °C). Les plantes seront mise à germer, et, dès apparition des feuilles vraies, inoculées avec *P. coffeae*. Il faudra compter environ 400 *Pratylenchus* par plant, ce qui suppose un élevage préalable.

Le plus simple est d'élever *P. coffeae* peut être élevé sur sorgho (variétés classiques à gros grains), si possible sucré. Un plant de sorgho, cultivé dans une chambre de culture (en pot rempli de terre sableuse préalablement stérilisée) peut produire plusieurs dizaines voir centaines de milliers de *P. coffeae*.

Les plants inoculés seront comparés à des plants non inoculés. Il faut compter au moins 6 répétitions pour chaque espèce de plant à tester.

Les plants sont ensuite cultivés dans des conditions favorables à la croissance du nématode et de la plante (température de 20 à 26 °C, pH 1 à 2) pendant 45 jours (soit deux fois environ la longueur du cycle d'œuf au 1^{er} œuf de *P. coffeae*). L'eau d'irrigation devra être indemne de nématodes (donc eau du réseau urbain ou eau filtrée à 5 μm).

Au bout de 45 jours, les plants sont sacrifiés et on mesurera, plant par plant :

- la hauteur des plants, le nombre de feuilles, le poids du système aérien et celui du système souterrain

et surtout on extraira, plant par plant :

- les nématodes des racines (si possible par aspersion ; sinon par centrifugation flottaison ; mais pour l'ensemble des plants d'une étude donnée, la même méthode doit être appliquée)

- si possible (facultatif) les nématodes du sol (centrifugation-flottaison).

Les dénombrements de nématodes permettront de calculer le taux de multiplication de la population à 45 jours. Ce taux de multiplication est l'indicateur qui permet de conclure sur le statut d'hôte. Les mesures morphologiques de la plante permettent d'évaluer les effets du nématode sur leur croissance et leur développement.

2.6 Proposition d'expérimentation pour réguler les populations de nématodes

Une fois installés dans une plante, les nématodes endoparasites de plantes sont généralement très difficiles à éliminer. De là l'accent à mettre sur les **mesures prophylactiques** lors de la plantation. De là la nécessité:

- de n'utiliser que de matériel de production sain (PIF, ou plus sûr, vitro-plants) garantis indemne de nématode (après prélèvement de 5 plants par lot pour extraire et dénombrer les nématodes éventuellement présents)
- d'assainir au préalable les parcelles à l'aide d'une plante de rotation assainissante. D'où l'importance des études que nous avons évoqué au chapitre précédent.

A court terme, les Crotalaires, notamment *Crotalaria spectabilis*, donnent souvent de bons résultats contre les pratylenchidae en général, *P. coffeae* en particulier. Elles permettent de réduire fortement les durées des rotations pour détruire les populations de *P. coffeae*. *C. spectabilis* ainsi que les espèces locales de *Crotalaria* spp. devraient être rapidement évaluées en conditions contrôlées (selon protocole développé ci-dessus). Les « meilleures » crotalaires devraient ensuite être testées chez et avec les agriculteurs pour

- vérifier la faisabilité de leur culture (**efficacité de l'assainissement au champ**, facilité d'entretien, facilité d'obtention de semences de qualité, etc.)
- concevoir un système de culture assainissant.

Pour vérifier la qualité de l'assainissement dans une parcelle d'essai, il faudra chaque mois :

- prélever des échantillons de sol avec une tarière (compter 10 points de prélèvement pour une parcelle de moins de 100 m², 25 points à partir de 5000 m²)
- les mettre en pot de 1L dans une serre (température et humidité : voir partie 1.5)
- planter puis cultiver un vitro-plant de bananier plantain dans chaque pot pendant 45 jours
- au bout de 45 jours, sacrifier les plants, extraire les nématodes éventuellement présents dans les racines par centrifugation-flottaison et les déterminer.

Une parcelle « saine » ne doit plus comporter de Pratylenchidae. On peut en revanche tolérer la présence de *Meloidogyne* et d'*Helicotylenchus* (il faut néanmoins avertir l'agriculteur ; par exemple, si les *Meloidogyne* caribéens ont généralement peu d'effet sur la productivité des bananiers, ils peuvent réduire drastiquement la production de cultures maraîchères voir détruire des espèces fruitières sensibles).

Dans les plantations établies : nous déconseillons fortement l'utilisation des nématicides organo-phosphorés ou carbamates en raison de leur toxicité pour les utilisateurs (tous sont « nocifs » à « très toxiques »), pour la faune du sol (ils détruisent une partie substantielle de la faune du sol, dont les « ingénieurs du sol » : verre de terre, fourmis et termites), pour l'environnement (risque de contamination des eaux de ruissellement et de drainage), sans compter le risque de résidus dans les bananes produites.

Pour l'instant, les tentatives de lutte biologique utilisant des champignons et bactéries nématophages n'ont pas encore donnés les résultats escomptés. Certaines préparations ont donné de bons résultats en laboratoire (en particulier au Costa Rica) mais des résultats insuffisants au champ. Les recherches en cours peuvent déboucher sur une meilleure compréhension du fonctionnement microbien des sols et déboucher à terme sur de nouvelles méthodes de contrôle utilisant des mycorhizes, des bactéries ou des champignons vivant dans les racines. Cependant, ces techniques ne seront pas adoptables par les agriculteurs avant plusieurs années.

L'utilisation de plantes de couverture peut jouer un rôle. Certaines plantes (brassicacées en particulier les moutardes) émettent des composés toxiques pour les nématodes. D'autres vont favoriser l'activité biologique des sols et permettre de fortes augmentations des populations de prédateurs de nématodes¹⁰. Cependant, la majorité des *P. coffeae* vivent à l'abri de leur racine hôte si bien que seule une fraction de la population est affectée. Les plantes de couvertures peuvent néanmoins contribuer à la prévention de la dissémination des nématodes dans le sol. D'où l'importance de connaître le statut hôte / non hôte de ces plantes ainsi que leurs effets sur la faune du sol. Ces effets peuvent être :

- directs (plantes à effet nématicide qui contribuent au contrôle, plantes hôtes qui peuvent amplifier les populations de *P. coffeae* ou les piéger)
- indirects via les réseaux trophiques et la croissance de populations de prédateurs « utile » contre les nématodes parasites.

Les agronomes qui conçoivent de nouveaux systèmes de culture ont ainsi tout intérêt à travailler en équipe avec les spécialistes des ennemis des cultures pour évaluer l'effet de leurs innovations sur les populations de parasites de plantes, dont de nématodes.

Enfin, les programmes de sélections variétales menés aux Antilles et au Cameroun incluent l'évaluation de la tolérance des nouvelles obtentions à *R. similis* et *P. coffeae*. Encore faut-il que ces nouvelles variétés soient acceptées par les marchés locaux.

¹⁰ Djigal D., Chabrier C., Duyck P.F., Achard R., Quénéhervé P., Tixier P. 2012. Cover crops alter the soil nematode food web in banana agroecosystems. *Soil Biology and Biochemistry*, 48, 142-150. <http://dx.doi.org/10.1016/j.soilbio.2012.01.026>

3. Culture in vitro (VITROPIC)

Lors de la mission, le FAMV (Dr. Nicolas Carvil et Mme Sendy Ulysse) nous a indiqué à la fois la disponibilité possible de matériel pouvant être utilisé dans le futur laboratoire (en particulier hotte à flux laminaire et autoclave), ainsi que le bâtiment en cours de réhabilitation qui devrait accueillir le laboratoire de culture in vitro.

Concernant le site, quelques recommandations ont pu être faites, en particulier concernant :

- Le positionnement de la hotte à flux laminaire : celle-ci devra être placée en laissant un espace suffisant entre le dos de l'opérateur (assis) et le mur arrière, pour éviter les tourbillons d'air pouvant entraîner des contaminations (voir normes), en général il faut laisser une distance d'environ 1,70 mètre.
- Le respect de la norme du circuit d'un laboratoire dite 'marche en avant' à partir de l'entrée des produits (matériels, réactifs, œilletons, etc. : dit 'produits ou échantillons sales') afin que les échantillons dit 'propres' (fin du process) ne croisent pas les produits ou échantillons dit 'sales' (entrée) ; soit une 'marche en avant' sans possibilité de recul. Il faut de plus que les salles "propres" ne soient pas accessibles directement depuis l'extérieur (afin, par exemple, d'éviter qu'un agent de terrain n'apporte des échantillons de sols ou racines non traités directement dans la salle où se trouve les hottes à flux laminaires). Des recommandations ont été faites sur place pour organiser et aménager les salles en ce sens.
- L'intégration d'au moins une douche dite 'de sécurité' placée à proximité immédiate des locaux à cause des risques de brûlure lors des manipulations (alcool + flamme = risque d'incendie, dont cheveux !), de portes de secours permettant d'évacuer les salles (ouvrables depuis l'intérieur et non de l'extérieur).
- Veiller à ce que le personnel change de tenue (blouse) lors des passages entre salle 'sale' et salle 'propre' – rem. : pour des raisons de sécurité, il faut éviter les vêtements de travail et de protection en nylon, préférer le coton.



Photo 9 : Future salle CIV en réfection

D'autre part, à notre demande, Mme Sindy Ulysse Rony nous a fait parvenir la liste de matériel et réactifs (consommables) existant à la FAMV et nécessaire au bon fonctionnement du futur laboratoire, donc à commander (annexe 1).

En fonction de l'état d'avancement du laboratoire (CIV) et de la disponibilité de la responsable ciblée, Mme Sindy Ulysse Rony, le CIRAD, avec l'appui de Vitropic, propose que le responsable de la production de Vitropic, M. Yannick Lamagnère, puisse programmer une mission de formation de 5 jours aux techniques de culture in vitro des bananiers. M. Lamagnère pourra amener avec lui à la fois des vitroplants de bananiers plantains haïtiens (Musquée) et les outils et réactifs nécessaires (dans la limite de l'enveloppe budgétaire du projet) pour cette formation et le démarrage des activités de multiplication du laboratoire.

4. Agronomie (irrigation et fertilisation adaptée)

Avec Nicolas Carvil et Patrice Charles (directeur de la production végétale du MARNDR), nous avons visité les essais en cours sur une des parcelles du projet à Vigné (axe Cabaret-Arcahaie).

- Essai irrigation en bassin (placette)

Le but de l'essai est de tester 2 modalités d'irrigation : en ligne (à la raie) ou en bassin (placette) et avec et sans paillage (photos) afin de mesurer l'impact de ces modalités sur les paramètres de production du bananier, en recherchant à diminuer les volumes d'eau à apporter et éventuellement la fréquence des apports.

Cet important essai n'a que quelques mois, aucune informations n'est disponible à ce stade.



Photos 10 et 11 : vues des essais irrigation x paillage de Vigné

- Essai fertilisation

L'essai consiste en l'utilisation de différente dose de l'engrais composé '20-7-25, et additionné ou non d'une dose de fumier à base de fiente de poulet.

Le but est de mettre en évidence, dans les conditions des sols de la zone, la possibilité de diminuer les doses d'engrais minéraux et d'augmenter les apports de matière organique, tout en conservant une bonne productivité et des coûts d'intrants les plus bas.

Cependant, à ce jour, nous n'avons pas pu obtenir les protocoles des essais du professeur impliqué de la FAMV ; nous ne pouvons ainsi faire des observations constructives sur l'orientation de cette importante étude ...

5. ANNEXES

5.1 Annexe 1 : Demande de financement pour les équipements d'un laboratoire de nématologie au Laboratoire Vétérinaire et de Contrôle de Qualité des Aliments de Tamarinier (LVCQAT).

Cette demande a été faite avec le directeur du LVCQAT lors de la mission.



REPUBLIQUE D'HAÏTI

Ministère de l'Agriculture, des Ressources Naturelles et du Développement Rural (MARNDR)
Laboratoire Vétérinaire et de Contrôle de Qualité des Aliments de Tamarinier (LVCQAT)
Tel: 3994-8472

CIRAD- TAMARINIER

FINANCEMENT CSME/UNION EUROPEENNE

Renforcement de la capacité d'exportation des Producteurs haïtiens de bananes vers la région Caraïbe par l'appui analytique : Recherches, Détermination et dénombrement des nématodes.

Novembre 2016

1. Titre du projet	Appui analytique aux Producteurs de bananes en Haïti : Recherches, Détermination et dénombrement des nématodes.
2. Thèmes n° 1, 2 et/ou 32. Thèmes n° 1, 2 et/ou 3	Thème n°1, 2, 3
3. Date de lancement	1 Decembre 2016
4. Date d'achèvement	31 Mai 2017
5. Organisation(s) auteur(s) de la demande	CIRAD - Laboratoire Vétérinaire et de Contrôle de Qualité des Aliments de Tamarinier (LVCQAT/MARNDR)
6. Organisation(s) chargée(s) de la mise en œuvre	Coordination du Groupe CARICOM en Haïti/Représentation de l'Union Européenne en Haïti

7. Contexte et raison d'être du projet	<p>D'un point de vue géographique, la portée de la stratégie banane plantain concerne tout le territoire. La filière banane plantain compte parmi les cultures identifiées en Haïti comme étant stratégiques à la fois pour la sécurité alimentaire du pays et l'accroissement des revenus des producteurs, l'exportation vers les pays voisins comme par exemple ceux du CARICOM. La principale contrainte de la culture des bananiers plantains en Haïti est le parasitisme des racines par les nématodes essentiellement les nématodes du genre <i>Pratylenchus</i>.</p> <p>Les principales méthodes de contrôle de ces parasites reposent sur l'utilisation de rotation culturale ou de jachère couplée à l'utilisation de matériels de plantation indemne de parasites. Leur mise en œuvre nécessite des moyens de monitoring et d'évaluation des populations donc d'un laboratoire capable d'extraire, de déterminer et de dénombrer ce type d'organisme. En effet les nématodes n'étant pas visibles à l'œil nu, ils ne peuvent être quantifiés au champ.</p> <p>Dans le cadre du présent projet, nous proposons d'équiper des salles déjà existantes sur le site du LVCQAT avec le matériel nécessaire pour permettre aux agriculteurs d'évaluer les populations de nématodes phytoparasites.</p> <p>Nous sollicitons de l'Union Européenne via le CSME un financement de 18000 dollars américains pour acquérir les équipements nécessaires et rendre cet outil opérationnel.</p> <p>Ce projet s'inscrit dans le cadre du projet Accès au marché de CARICOM et renforcement des capacités d'exportation. Il sera mis en œuvre par le LVCQAT en collaboration avec CIRAD. Etant entendu que, la stratégie banane plantain devra à terme, servir au renforcement de l'efficacité de toute la filière et de sa compétitivité sur les marchés dans les 10 prochaines années. L'exécution de ce projet par la réduction des risques phytosanitaires contribuera à :</p> <ul style="list-style-type: none"> • répondre aux exigences des acheteurs, en produisant des produits répondant aux normes internationales ; • permettre aux acteurs de la filière banane d'accéder à des financements conformes à leurs besoins ; • développer et renforcer les outils de promotion de la filière. <p>A ce titre, l'exécution de ce projet avec le financement du Programme CSME/Union Européenne concernera ensemble des acteurs de la filière :</p> <ul style="list-style-type: none"> + le secteur privé (Producteurs, transformateurs, Exportateurs) ; + les agences gouvernementales, les associations et les institutions internationales et/ou ONG impliquées dans le secteur ; + les fournisseurs de services impliqués dans le secteur.
---	---

8. Gestion du projet	<p>La maîtrise d’ouvrage sera assurée par le CSME et la maîtrise d’œuvre par le LVCQAT/CIRAD. Le CSME en concertation avec le LVCQAT/CIRAD, mettra en place un Comité de Pilotage (CP) qui sera chargé de fixer les orientations de programme et veillera à sa bonne exécution. Le CP examinera les rapports d’avancement et de gestion du programme. Ces rapports seront produits suivant une périodicité de cinq mois. Le CP approuvera également les plans de travail et les budgets.</p> <p>Les activités financées par le programme feront l’objet d’un suivi-évaluation continu et de plusieurs évaluations périodiques dans le but de :</p> <ul style="list-style-type: none"> ● Vérifier si l’exécution des composantes respecte leur plan d’action et les cahiers des charges de leurs réalisations ; ● Vérifier la pertinence et la cohérence de l’intervention ; ● Mesurer la concrétisation des résultats attendu et des objectifs immédiats. <p>Le programme sera évalué à mi-parcours de son exécution par une équipe des cadres nationaux. Cette revue permettra de :</p> <ul style="list-style-type: none"> ● Faire le point sur l’état d’avancement de l’exécution du programme ; ● Vérifier que les résultats obtenus concourent à l’atteinte des objectifs du programme ; ● Vérifier que les ressources allouées ont été utilisées pour l’atteinte des objectifs fixés ; ● Proposer, sur la base des constats faits, des orientations nécessaires pour la suite du programme
-----------------------------	--

9. Objectifs du projet	<p>9.1 Objectif général</p> <p>L'objectif du projet est d'améliorer les capacités de production et la performance commerciale de la filière banane plantain en Haïti en développant des activités hiérarchisées de mise en œuvre, en y intégrant des mesures de progrès pour le suivi de son exécution et en répertoriant les ressources nécessaires à la mise en œuvre de ces activités. Il s'agira de :</p> <ul style="list-style-type: none"> • Mettre à la disposition des agriculteurs un laboratoire capable de déterminer et de dénombrer les populations de nématodes phytoparasites • Dans un premier temps, ce laboratoire sera plus particulièrement au service des producteurs de bananes plantains. Il sera dans un second temps utilisable par les producteurs d'autres cultures particulièrement impactées par les nématodes comme par exemple le Caféier ou les cultures maraichères (tomates...) <p>9.2 Objectifs spécifiques</p> <p>De façon spécifique, il s'agira de :</p> <ul style="list-style-type: none"> - renforcer les capacités des producteurs sur : <ul style="list-style-type: none"> o le choix des variétés adaptées ; o les techniques culturales (préparation de sol, la protection phytosanitaire, la fertilisation organique, etc.) o Le choix de cultures de rotations (qui doivent être non hôtes de nématodes ; le laboratoire devant justement contribuer à définir ce statut d'hôte / non-hôte). - Proposer un dispositif (mécanisme et indicateurs) de suivi-évaluation des impacts des connaissances et comportements des acteurs.
-------------------------------	--

10. Résultats du projet	<p>Tenant compte des préoccupations du secteur et des objectifs à atteindre, les résultats attendus sur les 10 prochaines années sont :</p> <ul style="list-style-type: none"> • Amélioration de la production de bananes plantains en Haïti notamment dans les plaines de l'Arcahaie - Cabaret- Montrouis - St Marc en complément des projets PACB (Projet d'amélioration de la Culture de la Banane, phase II) financés dans le cadre du projet PSI (Projet Sectoriel d'Irrigation) du MARNDR avec l'appui des fonds de l'AFD. • Possibilité de développement de bananeraies biologiques. Grace au laboratoire monté dans le cadre de cette proposition, il sera possible de sélectionner des parcelles indemnes de <i>Pratylenchus</i> et de vérifier l'assainissement des parcelles mises en jachères. L'usage des pesticides du groupe des nématodes n'aura ainsi plus de raisons d'être. • Enfin à plus long terme l'outil proposé par le présent projet pourra appuyer le développement d'autres filières comme les filières Café, Igname, Ananas... • Les marchés existants de la Région CARICOM sont consolidés et les nouveaux produits ciblés. • Un système fiable de traçabilité des produits du secteur existe ; • Un label qualité est créé et reconnu internationalement pour chaque produit du bananier plantain ; • Un volume et un nombre important de produits transformés à forte valeur ajoutée est commercialisé ; • Les techniques de protection phytosanitaire sont maîtrisées par les producteurs de bananes. • Les techniques culturales sont maîtrisées, • Un dispositif (mécanisme et indicateurs) de suivi-évaluation des impacts des connaissances et comportements des acteurs est proposé.
11. Activités du projet	<ul style="list-style-type: none"> • Composante I : Choix du local et des salles dédiées (salle de préparation, salle de microscopie) • Composante II : Equipement des salles • Composante III : Achat du matériel complémentaire nécessaire • Composante IV : Formation des techniciens dans le domaine suivant : extraction de nématodes (centrifugation – flottaison d'une part Baermann d'autre part). détermination des principaux nématodes phytoparasites des bananiers.
12. Coopération entre les secteurs privé et public	<p>Le présent projet met en œuvre une coopération avec d'une part, la FAMV et le MARNDR (Direction des Productions Végétales), et d'autre part, les Producteurs de bananes.</p>

13. Budget	Description			Jour	Qt	Unit	Total			
	Frais d'aménagement de laboratoire (plomberie, maçonnerie, menuiserie.....)				1	2500	2500			
	Centrifugeuse à godets, 250 ml, 3000 RPM,				1	10000	10000			
	Colonne de tamis (250, 80, 50, 30 um)				2	500	1000			
	Vibromélangeur				1	500	500			
	Petits matériels divers (planches à découper, couteaux, balance, microscope, passoire, bécher, erlenmeyer, éprouvettes graduées....				1	3000	3000			
	Produits de laboratoire (sulfate de magnésie, kaolin....)				1	1000	1000			
	GRAND TOTAL						18000			
14. Calendrier d'exécution du Programme	No	Modules	Nbre d'heures	Mois						
				1	2	3	4	5	6	7
	1.	Choix du local								
	2.	Aménagement du laboratoire								
	3.	Achat de matériels de laboratoire								
	4.	Formation de techniciens								

5.2 Annexe 2 : Technique de prélèvement de racines de bananier (Mode opératoire utilisé au CAEC à la Martinique)

I. Objet et domaine d'application

Déterminer les différentes étapes du prélèvement des racines de bananier pour obtenir un échantillon représentatif de la parcelle à analyser. Cette instruction s'adresse aux groupements qui en font la demande ainsi qu'aux chercheurs, techniciens, VCAT et stagiaires.

II. Documents associés

- Formulaire « F-TE-04/NEMA » : Bon de commande

III. Abréviations

cm : centimètre
Kg : Kilogramme

IV. Modalités

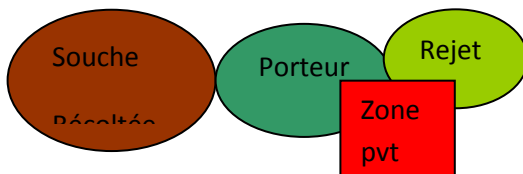
1 Le matériel

- Pelle-bêche
- Couteaux
- Sacs plastique transparent de 10 L
- Gants
- Etiquettes bureau 111

Tout ce matériel se trouve au laboratoire salle 109

2 La technique

- Les bananiers choisis, en général au stade floraison, sont dégagés de tous débris végétaux recouvrant la surface du sol. En général, 30 bananiers par hectare sont prélevés pour obtenir 1 échantillon composite représentatif.
- Le prélèvement est réalisé dans une zone aussi écartée que possible de la souche du cycle précédent (pied récolté). **Il se fait donc entre le pied-mère et le rejet, en sélectionnant un maximum de racines du pied-mère et non du rejet.**



- Découper le volume de terre à l'aide d'une pelle-bêche enfoncée verticalement dans le sol jusqu'à 25cm de profondeur sans mouvement de levier et sans détacher les racines du bulbe
- Prélever à partir de la souche 5 racines d'environ 25cm de longueur par bananier.
- Les racines de surface, desséchées ou totalement pourries, sont éliminées ainsi que la terre adhérente. Couper les racines pour qu'elles soient de longueurs identiques (environ 25 cm), l'objectif étant de prélever le même volume de racines sur chaque plant
- Mettre les racines provenant des 30 bananiers prélevés dans un sac plastique transparent de 10 litres
- Identifier l'échantillon à l'aide d'une étiquette dûment remplie
- Tous les échantillons sont répertoriés obligatoirement sur le bon de commande « F-TE-04/NEMA » préciser :
 - La plantation
 - La parcelle
 - Le nom du planteur
 - La date de prélèvement
 - L'identité du préleveur
- Ne pas exposer les échantillons au soleil ni à la chaleur d'un coffre de voiture, les transférer le plus rapidement possible (délai maximum 72 heures) au laboratoire.
- Analyse de la conformité au laboratoire : observation visuelle échantillon et étiquetage.

5.3 Annexe 3 : Extraction de nématodes d'un échantillon de racines par centrifugation-flottaison

I. OBJET ET DOMAINE D'APPLICATION

Description des différentes étapes de la méthode d'extraction de nématodes par centrifugation-flottaison (modifiée par Coolen et d'Herbe 1972), dans le but de dénombrer les nématodes contenus dans un échantillon de racine.

Ce mode opératoire s'adresse aux chercheurs, ingénieurs, techniciens, VCAT et stagiaires.

II. PRINCIPE DE LA METHODE

Cette méthode a pour principe l'utilisation de la densité des nématodes par rapport à l'eau et à une solution de sulfate de magnésium.

III. DOCUMENTS ASSOCIES

- P-TE-01/NEMA Réalisation des analyses
- P-TE-02/NEMA Habilitation du personnel

Enregistrements :

- E-TE-02/NEMA Solution de sulfate de magnésium
- E-TE-03/NEMA Fiche de comptage
- E-TE-04/NEMA Bon de commande
- E-GD-05 N°EXT 2007-01/NEMA Publication Coolen et d'Herbe 1972

Instructions :

- I-M-01/NEMA Utilisation centrifugeuse JOUAN C412
- I-M-02/NEMA Utilisation loupe binoculaire Wild MZ8
- I-M-03/NEMA Utilisation loupe binoculaire Wild M5A
- I-M-04/NEMA Utilisation microscope Leitz Diaplan
- I-M-05/NEMA Utilisation microscope LEICA DMLB

IV. ABREVIATIONS

- $(\text{MgSO}_4, 7\text{H}_2\text{O})$: *Sulfate de magnésium, 7 molécules d'eau*
- μ : *micron*
- μm : *micromètre*
- cf. : *confer*
- cm : *centimètre*
- g : *gramme*
- g/l : *gramme par litre*
- mL : *millilitre*
- mn : *minute*
- réf : *référence*
- CQSE : *correspondante qualité sécurité environnement*
- VCAT : *volontaire civil à l'aide technique*

V. MOYENS EMPLOYES

a. Le matériel

Le matériel critique est identifié par « * »

- Centrifugeuse avec godets de 250 mL
- Mixer
- Vibro mélangeur
- *Batterie de tamis : 250 μm , 80 μm , 50 μm , 32 μm et un tamis de 5 μm
- Balance
- Planche à découper
- Couteau
- Passoire
- Becher de 250mL, 100mL
- Tubes gradués à 25, 50, 100 mL
- Microscopes
- Loupe binoculaire
- Cellule de comptage
- *Densimètre

b. Les réactifs

Le réactif critique est identifié par un « * »

- Kaolin réf : 24926364 Labover (*argile concassé qui sert à contenir les débris végétaux et les nématodes pendant les centrifugations*)
- Solution de sulfate de magnésium ($\text{MgSO}_4, 7\text{H}_2\text{O}$) réf 25165361SP Labover, soit 450 g (plus ou moins 1 g) pour un litre d'eau du robinet (*à défaut, on peut utiliser du sucre, soit 500 g/l plus ou moins 1 g*), afin d'obtenir une densité comprise entre 1.15 et 1.20.

Ces réactifs sont stockés dans la salle de réserve produits chimiques.

c. Consignes de sécurité spécifique

Néant

d. Etalon et Calibrage

un contrôle mensuel de la solution de sulfate de magnésium est effectué à l'aide d'un densimètre (densité comprise entre 1.15 et 1.20), la densité obtenue est reportée sur la fiche E-TE-02/NEMA.

Si la densité de la solution est inférieure à 1.15 on la réajuste en ajoutant un peu de sulfate de magnésium jusqu'à obtenir la densité voulue. Noter la nouvelle valeur sur la fiche.

Le matériel optique est contrôlé chaque année par la société LEICA

Les balances sont contrôlées chaque année par la société BALCO

Une étiquette est apposée sur ces appareils pour attester du contrôle, les fiches de maintenance sont gérées par le responsable maintenance.

e. Processus Opératoire

Enregistrement du prélèvement

Les échantillons sont enregistrés suivant la procédure P-TE-01/NEMA.

Préparation de l'échantillon

- Laver les racines avec un jet puissant d'eau pour les débarrasser de la terre.
- Sur une planche, découper les racines en petits morceaux de 1 cm environ.
- Mettre les morceaux de racines dans une passoire, les laver à l'eau courante pour éliminer toute la terre.
- Bien homogénéiser le lot de racines.
- Prélever dans un petit Becher en plastique un aliquote d'environ 50 g de racines. Dans le cas où les échantillons ne peuvent être traités immédiatement, identifier l'échantillon. Conserver au frais.
- Remettre dans le sachet les racines non utilisées, garder environ deux semaines en cas de contrôle.
- Extraction par centrifugation – flottaison
- Mettre dans le bol du mixer les racines pesées, ajouter 200 mL d'eau du robinet.
- Mixer 2 fois 30 secondes avec un intervalle de 5 secondes entre les 2 broyages.

- Verser le broyat sur une colonne de tamis : de bas en haut 32 μm , 50 μm , 80 μm , 250 μm , tamis préalablement mouillés. Bien rincer le bol du mixer au dessus du tamis 250 μm .
- Tamiser pendant 2 mn avec un jet puissant sans éclabousser, le contenu du tamis 250 μm .
- Jeter le contenu du tamis 250 μm , puis laver, au dessus du tamis 50 μm (jet très faible), le contenu du tamis 80 μm , par-dessus et par-dessous, en l'inclinant un peu afin de faire descendre doucement le contenu vers le bas.
- Récupérer le contenu du tamis 80 μm dans un godet de centrifugation 250 mL, dans lequel on aura mis au préalable 3 cuillères à café de KAOLIN.
- Faire de même pour les tamis 50 μm et 32 μm .
- Mettre en suspension à l'aide du Vibro mélangeur.
- Equilibrer précisément avec de l'eau distillée les godets 2 à 2 sur la balance.
- Centrifuger à 3000 tours / mn pendant 5 mn.
- Jeter le surnageant (eau).
- Ajouter 200 mL de sulfate de magnésium (opérer rapidement car les nématodes supportent mal la pression osmotique du sulfate de magnésium).
- Remettre le culot en suspension avec le Vibro mélangeur.
- Equilibrer précisément les godets 2 à 2 sur la balance avec du sulfate de magnésium.
- Centrifuger à 3000 tours / mn pendant 5 mn cf. I-M-01/NEMA
- Verser le surnageant sur un tamis de 5 μm préalablement mouillé.
- Laisser le tamis en place quelques minutes pour récupérer le sulfate de magnésium.
- Laver doucement (jet d'eau très faible) par-dessus et par-dessous, le tamis légèrement incliné.
- Récupérer le contenu du tamis (entonnoir) dans un tube gradué de 50 mL, à l'aide d'une pissette d'eau.

Comptage

- Mettre un bulleur dans le tube pour remettre en suspension les nématodes.
- Prélever environ 2 mL de cette suspension avec une pipette, monter en cellule de 1 mL.
- Compter au microscope ou à la loupe (cf. I-M-02/NEMA, I-M-03/NEMA, I-M-04/NEMA, I-M-05/NEMA) tous les nématodes présents dans le quadrillage (10x8=1mL) et reporter le résultat sur la fiche E-TE-03/NEMA.

f. Expression des résultats

1. Les critères de validation :

Habilitation de l'opérateur suivant la procédure P-TE-02/NEMA

2. Les calculs :

Appliquer la formule suivante pour avoir le nombre de nématodes contenus dans 100 g de racines :

$$\frac{\text{Nbre.de.nématodes} \times \text{volume}}{50\text{g.de.racines}} \times 100$$

3. La limite de détection :

Le matériel optique est choisi d'après des critères stricts pour l'observation des nématodes.

4. L'incertitude des résultats :

Néant.

5. Les autocontrôles :

Néant

g. Conditions de conservation et d'élimination des échantillons

Les échantillons (après 2 semaines environ) sont éliminés par le circuit normal des déchets ménagers.

g. Commentaires - Remarques

Refuser tout échantillon qui ne serait pas identifié correctement et qui ne serait pas accompagné d'un bon de commande.

Quelques étapes en image :



Réservoir MgSO_4



Colonne de tamis



Broyage



Tamisage



Agitation



Tamis 5 μ (récupération)



Récupération en tube

5.4 Annexe 4 : matériel pour laboratoire de culture in vitro FAMV

Tableau 1- Liste de matériel et équipement présent et à acquérir suivant la FAMV

Acquis de la FAMV	Acquisition à faire
	Système d'immersion temporaire
	Autoclave
Hotte	Stérilisateur pinces (à billes) + billes de verre
Réfrigérateur	Picettes
Etagères	Scalpel / lames
Armoires	Pinces
Chambre de croissance (growth chamber)	Balance électronique
	Parafilm
Pipettes	Bocaux (gerber), acquisition à faire sur place
Verrerie	Bouchons de bocaux (gerber) en plastique
	Pompe péristaltique

Tableau 2- Liste de matériel à commander avec leur spécification suivant la FAMV

Matériel	Spécification	Quantité	Prix unitaire (euros)
Autoclave		1	
Balance électronique		1	
Glass beads, acid-washed (212-300µm)	G 1277-500g	1	361
Sterilizer, dry bead	Steri 350, AC input 240V, Z378585EU	2	405,50

Tableau 3- Liste des réactifs pour le fonctionnement du laboratoire suivant la FAMV

Macro-éléments	Formule	spécification	Quantité	Prix unitaire (euros)
Ammonium nitrate	NH ₄ NO ₃	A 3795-500g	2	52
Calcium chloride	CaCl ₂ , 2H ₂ O	C 8106-500g	1	72,90
Potassium nitrate	KNO ₃	P 8291-1kg	2	101
Magnésium sulfate	MgSO ₄ , 7H ₂ O	M 2773-500g	1	91
Monosodium phosphate	NaH ₂ PO ₄ , H ₂ O	S 5011-500g	1	86
Ferrous sulfate	FeSO ₄ , 7H ₂ O	F 8263-500g	1	63
Monopotassium Phosphate	KH ₂ PO ₄ , H ₂ O	P 5655-500g	1	65
Calcium Nitrate	Ca(NO ₃) ₂ , 4H ₂ O	C 2786-500g	1	66,50
Micro-éléments				
Boric Acid	H ₃ BO ₃	B 6768-500g	1	47,90
Manganese sulfate	MnSO ₄ , H ₂ O	M 7899-500g	1	66,60
Potassium iodide	KI	P 8166-100g	1	56,80
Zinc sulfate	ZnSO ₄ , 7H ₂ O	Z 1001-500g	1	77,30
Sodium Molybdate	Na ₂ MoO ₄ , 2H ₂ O	M 1651-100g	1	75,40
Cobalt Chloride	CoCl ₂ , 6H ₂ O	C 2911-100g	1	105,50
Cupric sulfate	CuSO ₄ , 5H ₂ O	RES10395-B702X		204,50
EDTA (Disodium)	Na ₂ EDTA (2H ₂ O)	E6635-500G	1	136 ,50
Vitamines				
Glycine		G 5417-100g	1	24,10
Nicotinic Acid		N 0761-100g	1	29,60
Thiamine H-Cl		T 1270-25g	4	36,10
Pyridoxine hydrochloride		P 6280-25g	1	69,30
Folic Acid		F 8758-5g	1	26,40

N.B. En jaune, les réactifs disponibles au laboratoire.

Propositions de Vitropic :

Liste du matériel apporté par Vitropic pour le laboratoire de la FAMV, lors de la mission de formation :

Pinces	x5
Scalpels	x5
Lames stérile	1 x 100
Milieu MS	3,4 g/L
Solution BAP	1 mL/L
Solution vitamines	2 ml/L
Gellane	3 g/L

Matériel végétal in-vitro stérile (bananier / patate douce)

Matériel nécessaire sur place, lors de la mission de formation :

Equipements

Hotte
Autoclave
Stérilisateur pour outils
pH mètre

Consommables

Verrerie
Balance
Eau pure
Epruvettes
Récipients en verre pour CIV (baby food... ?)

Javel
Sucre
KOH
Papier / essuie tout stérile
Désinfectant mains